



TITLE:

第3回京都大学医療技術短期大学部
健康科学集談会抄録 3. 遺伝子工学
技術を用いたヒト肝臓アルギナー
ゼの大腸菌による発現及びその性
質と特異抗体の生成

AUTHOR(S):

池本, 正生; 田畑, 勝好; 戸谷, 誠之; 村地, 孝

CITATION:

池本, 正生 ...[et al]. 第3回京都大学医療技術短期大学部健康科学集談会抄録 3. 遺伝子工学技術を用いたヒト肝臓アルギナーゼの大腸菌による発現及びその性質と特異抗体の生成. 京都大学医療技術短期大学部紀要 1989, 9: 62-63

ISSUE DATE:

1989

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/49344>

RIGHT:

が、今回は、無拘束状態で小脳脳波の記録を試み、急性実験で得られた知見と比較検討した。

〔方法〕 予め慢性的に留置した埋め込み電極を介して、脳波は両側大脳運動野・両側小脳傍正中部から、筋電図は頸部伸筋群から、眼球運動は両側眼窩外側縁から、それぞれ長時間記録し、同時にビデオカメラを介してネコの行動を記録した。

〔結果〕 ①覚醒時：大脳脳波の低振幅速波と同期して小脳脳波にも低振幅速波が出現した。筋電図上では持続的な筋発射が見られ、眼球運動が高頻度に認められた。②入眠時：大脳脳波には断続的に短い紡錘波 (7~12 Hz) が出現し、それに同期して小脳脳波には特徴的な群化陽性波 (7~12 Hz) が認められた。筋電図上では筋発射は減少し、眼球運動も減少した。③軽睡眠時：大脳脳波には繰り返し長く持続する紡錘波が出現し、それと同期して小脳脳波にも長く持続する群化陽性波が見られた。筋電図上の筋発射、眼球運動はほとんど消失した。④深睡眠時：大脳・小脳脳波はともに高振幅徐波が優勢となり、筋発射及び眼球運動は消失した。⑤逆説睡眠時：筋発射は完全に消失するが、大脳・小脳脳波はともに覚醒時脳波と同じパターンを示した。いわゆる急速眼球運動が頻回に認められた。

〔結論〕 意識水準の各相に応じて、小脳にも脳波と呼ぶべき特徴的な電気現象を記録することができ、その脳波パターンは大脳脳波パターンと同期して変化する。特に、浅い睡眠時に見られる小脳群化陽性波は、軽麻酔下の急性実験で得られた群化陽性波の発生機序（大脳皮質運動野の紡錘波に駆動され、運動野一錐体路一下オリブ核入力系を介する小脳プルキンエ細胞の興奮の結果による）と同じである。

3. 遺伝子工学技術を用いたヒト肝臓アルギナーゼの大腸菌による発現及びその性質と特異抗体の作成

池本正生, 田畑勝好¹⁾, 戸谷誠之,

村地 孝²⁾

(京都大学医療技術短期大学部衛生技術学科¹⁾, 京都大学医学部臨床検査医学²⁾)

臨床検査の分野において肝疾患のマーカーとしてヒト肝臓アルギナーゼ量を蛋白量の面から捉えることは、検査診断上有効な指標になると考えられる。我々は、先に森ら (1987) が報告したヒト肝アルギナーゼの cDNA をもとに大腸菌から発現させて得られた本酵素の精製を行い、その性質を明らかにするとともに本酵素に対する抗体を作成し、新しい酵素免疫測定法の開発と臨床検査上の有用性を検討することを目的とする。方法としては、以下の順序で行った。①一部欠損している遺伝子を合成しクローニング後完全な cDNA を得た。②遺伝子工学技術により大腸菌 (KY1436株) を用いて本酵素を発現させた。③ 1. イオン交換クロマトグラフィー (DE52, CM-SephadexC-50), 2. ゲル濾過, 3. 寒天ゲル電気泳動法を用いて精製した。④精製アルギナーゼの解離会合性をゲル濾過法により証明した。⑤本酵素をウサギに免疫し特異抗体を作成した。⑥発現したヒト肝臓アルギナーゼに対し、前回報告した抗赤血球中アルギナーゼ抗体を用いてウェスタン・ブロットにより交差反応性を検討した。

〔結果〕 遺伝子工学技術を用いて本酵素の大腸菌による発現に成功した。分子量は約105000で、約35000のサブユニットからなる3量体を構成し、等電点は9.5~10.0、至適 pH は10.5付近であった。さらに、本酵素をアルカリ性で処理後ゲル濾過法により生体内では3量体から構成されていること、また会合性についてはアルカリ性下における熱エネルギー効果の実験からアルギナーゼサブユニットに会合性に関わる限定領域の存在が示唆された。また、ヒト肝臓アルギナーゼと抗ヒト赤血球中アルギナーゼ抗体と

が交差したことから、両酵素は恐らく同一蛋白質分子であるものと推論した。一方、今回得られた抗体を用いて本酵素の酵素免疫測定法を組み立て若干例について検討し有効な指標になると思われる結果を得た。

4. 作品『フランケンシュタイン』とその周辺

加茂 映子（京都大学医療技術短期
大学部教養科）

『フランケンシュタイン Frankenstein』(1818)をメアリ・シェリ Mary Shelley (1797-1851) が書き始めたのは、彼女がまだ18歳になる前のことである。この時すでに2回の出産経験があり、第一子を産んだ時メアリはまだ未婚で、しかも生まれた女の子は名前もつけられないまま数日後に世を去っている。正式にパーシ・シェリと結婚した後も、メアリの妻としての位置は必ずしも安定したものではなかった。作者が置かれたこのような状況を「その周辺」と規定した。作者の境遇と作者の苦悩を作品の奥に見通そうとする時、この作品は単に科学の発達に波に乗った怪奇小説だとはいえなくなるのではないだろうか。

幾つかの奇怪な殺人事件を含む、多くの死が描かれるこの作品は、18世紀後期から19世紀初期に英国において流行したゴシック小説のひとつである。実際、この作品が書かれたきっかけは、メアリの夫を含む文士たち4人が1816年の夏にスイスの別荘で連日の雨に閉じ込められ、気散じに各自が怪談を書こうという提案がなされたことにある。当時、ダーウィン博士（チャールズ・ダーウィンの祖父）の実験やガルヴァニー電気について知られ始め、生命の原理についての関心が高まっていた。フランケンシュタインは錬金術と科学の研究の結果、生命のないものの中に生命を注ぎ込むことに成功するが、それを創造したフランケンシュタインと、創造された生き物との間には終りのない抗争が展開する、というのがこの物語のあらすじである。

このようにきわめて不自然な仕方です。

たこの無辜の生き物は、その醜惡な外見のために社会に容れられなかったが、野望に駆り立てられてこの生き物を創ったフランケンシュタインもまた、社会を追われる。

メアリは科学万能主義の萌しに警告を発し、男性の野望に皮肉な一べつを投げかけた。メアリの第一子が名もなく死んでいったように、彼女の産んだこの醜い子にも名前は無かった。メアリは創られたこの醜惡な生き物の孤独に満腔の同情を寄せている。あたかも彼女自身のそれを重ね合わせるかのように。

5. HIV-1 に対するモノクローナル抗体開発の現状

岸下 雅通（京都大学医療技術短期
大学部衛生技術学科）

1987年9月より1年間、NIHにてAIDSの原因ウイルスのひとつであるHIV-1に対するヒトモノクローナル抗体開発のプロジェクトに参加して、得られた経験を以下の如く報告する。

HIV-1に対するマウスモノクローナル抗体は、1985年 Veronese らによる初めての報告以来、主に HIV-1 の遺伝子 gag 産物の p24、同じく env 産物の gp 41、gp 120 に対するものが、数多く樹立されている。また、近年 Banapour ら2、3のグループより、ヒトモノクローナル抗体樹立の報告もある。しかしながら、HIV-1の標的細胞である T₄ のレセプターとの結合に関与するとされる gp 120 に対するヒトモノクローナル抗体樹立の報告はなく、AIDS 患者の治療と感染防御の面からも、強く望まれている。

NIH の NIAID の Fauci らは、Micro Gene Sys 社製 HIV-1 ワクチンの毒性ならびに免疫原性について、成人ボランティアで検討しており、NIDR の Notkins らと NCI の協力のもとで、今回のプロジェクトが生れた。私達の行った方法は、基本的には Zagury らと同様で、HIV-1 抗体陽性のヒト PBMC より得たB細胞を、EBV の B95-8 株でトランスフォームし、HIV-1 抗体産性細胞と F3B6 細胞株を PEG-